

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 04-365489

(43)Date of publication of application : 17.12.1992

(51)Int.Cl. C12P 7/18

(21)Application number : 03-140063 (71)Applicant : MITSUI TOATSU CHEM INC

(22)Date of filing : 12.06.1991 (72)Inventor : SUZUKI TADASHI

ISHIWATARI KENICHI

(54) PRODUCTION OF MYOINOSITOL

(57)Abstract:

PURPOSE: To inexpensively produce inositol from phytic acid at normal temperature under normal pressure.

CONSTITUTION: Phytic acid or a salt thereof is treated with a phosphatase of hydrolyzing phytic acid and forming inositol monophosphate and a phosphatase of hydrolyzing inositol monophosphate and forming myoinositol to produce myoinositol. Phytic acid or a salt thereof is simultaneously or successively treated with the phosphatase (phytase) of hydrolyzing phytic acid into inositol monophosphate and the phosphatase of hydrolyzing inositol monophosphate and forming myoinositol to efficiently produce myoinositol from phytic acid or a salt thereof at normal temperature under normal pressure.

LEGAL STATUS

[Date of request for examination]

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

THIS PAGE BLANK (USPTO)

[Number of appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

THIS PAGE BLANK (USPTO)

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平4-365489

(43)公開日 平成4年(1992)12月17日

(51)Int.Cl.⁵
C 12 P 7/18

識別記号 庁内整理番号
8114-4B

F I

技術表示箇所

審査請求 未請求 請求項の数2(全4頁)

(21)出願番号	特願平3-140063	(71)出願人	000003126 三井東庄化学株式会社 東京都千代田区霞が関三丁目2番5号
(22)出願日	平成3年(1991)6月12日	(72)発明者	鈴木 正 千葉県茂原市東郷1144番地 三井東庄化学 株式会社内
		(72)発明者	石渡 健一 千葉県茂原市東郷1144番地 三井東庄化学 株式会社内

(54)【発明の名称】 ミオーアイノシトールの製造法

(57)【要約】

【目的】 フィチン酸から常温常圧でイノシトールを安価に生産する。

【構成】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼおよびイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオーアイノシトールを生成するホスファターゼをフィチン酸またはその塩に作用させてミオーアイノシトールを生産させる。

【効果】 フィチン酸をイノシトールモノリン酸に加水分解するホスファターゼ(フィターゼ)とイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオーアイノシトールを生成するホスファターゼを同時に、あるいは順次フィチン酸またはその塩に作用させることでフィチン酸またはその塩からミオーアイノシトールを常温常圧で効率よく生産できる。

1

【特許請求の範囲】

【請求項1】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼおよびイノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオ-イノシトールを生成するホスファターゼをフィチン酸またはその塩に作用させてミオ-イノシトールを生成させることを特徴とするミオ-イノシトールの製造法。

【請求項2】 フィチン酸またはその塩にフィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼを作らせ、次いでイノシトールモノリン酸を加水分解してミオ-イノシトールを生成するホスファターゼを作らせることを特徴とするミオ-イノシトールの製造法。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【産業上の利用分野】 本発明はフィチン酸またはその塩からミオ-イノシトールを製造する方法に関するものである。ミオ-イノシトールは医薬品や飼料添加物として広く使用されている。

【0002】

【従来の技術】 従来、ミオ-イノシトールの製造は、脱脂米糠やコーンスチーブリカーなどからフィチン酸のカルシウム・マグネシウム複合塩であるフィチンを分離し、次いで高温高圧下、フィチンを加水分解してミオ-イノシトールを得る方法が一般的に用いられてきた。しかし、高温高圧下でのフィチンの加水分解は、特殊な装置や大量のエネルギーが必要であり、工業的製法としては、必ずしも有利ではない。

【0003】 一方、植物や微生物には、フィチン酸を加水分解するホスファターゼであるフィターゼが存在することが知られており、例えば植物ではマング・ビーン (Mungbean) (N.C.Mandalら : Phytochemistry, vol.11, p.495-502, (1972))、小麦 (P.E.Limら : Biochimica et Biophysica Acta, vol.302, p.316-328, (1973))、などが知られており、微生物ではアスペルギルス (Aspergillus) 属 (Abul H.J.Ullahら : Preparative Biochemistry, vol.17, p.63-91, (1987), M.Ghareib : Acta Microbiologica Hungarica, vol.37, p.159-164, (1990))、シードモナス (Pseudomonas) (G.C.J.Irvingら : Aust.J.Biol.Sci., vol.24, p.547-557, (1971))、バチルス・ズブチリス (Bacillus subtilis) (Vishnu K.Powarら : Journal of Bacteriology, vol.151, p.1102-1108, (1982)) クレブシエラ (Klebsiella) (Varsha Shahら : Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, vol.27, p.98-102, (1990)) などから精製されて性質が報告されている。

【0004】 フィターゼの作用によりフィチン酸またはその塩を加水分解し、ミオ-イノシトールを生産することも試みられている。例えば、Abul H.J.Ullahら (Preparative Biochemistry, vol.18, p.483-489, (1988)) は、アスペルギルス属の微生物の生産するフィターゼを用

い、フィチン酸ナトリウム塩の加水分解反応を報告しているが、主な生成物はイノシトールモノリン酸であり、ミオ-イノシトールは生成しなかった。このようにフィターゼは、フィチン酸またはその塩からイノシトールモノリン酸までは加水分解するが、それ以上すなわちミオ-イノシトールまではほとんどまたは全く加水分解しないので、フィターゼを用いフィチン酸またはその塩からミオ-イノシトールを効率よく生産することは全く不可能であった。このように、従来、フィチン酸またはその塩より酵素反応により効率よくミオ-イノシトールを得る方法は全く知られていない。

【0005】

【発明が解決しようとする問題点】 本発明の目的は、フィチン酸またはその塩より酵素反応により効率よくミオ-イノシトールを得る方法を提供することである。

【0006】

【問題を解決するための手段】 本発明者らは、上記の従来技術の問題点について鋭意検討を重ねた結果、フィチン酸をミオ-イノシトールモノリン酸に加水分解するホスファターゼ (フィターゼ) とミオ-イノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオ-イノシトールを生成するホスファターゼを同時に、あるいは順次フィチン酸またはその塩に作用させることでフィチン酸またはその塩からミオ-イノシトールを常温常圧で効率よく合成できることを見出、本発明を完成するに至った。

【0007】 フィチン酸を加水分解し、イノシトールモノリン酸を生成するホスファターゼ (以下フィターゼと記す) としては、特に限定されないが、例えばマング・ビーン (N.C.Mandalら : Phytochemistry, vol.11, p.493-502, (1972))、小麦 (P.E.Limら : Biochimica et Biophysica Acta, vol.302, p.316-328, (1973))、などの植物由来のフィターゼ、アスペルギルス (Aspergillus) 属 (Abul H.J.Ullahら : Preparative Biochemistry, vol.17, p.63-91, (1987), M.Ghareib : Acta Microbiologica Hungarica, vol.37, p.159-164, (1990))、シードモナス (Pseudomonas) (G.C.J.Irvingら : Aust.J.Biol.Sci., vol.24, p.547-557, (1971))、バチルス・ズブチリス (Bacillus subtilis) (Vishnu K.Powarら : Journal of Bacteriology, vol.151, p.1102-1108, (1982))、クレブシエラ (Klebsiella) (Varsha Shahら : Indian Journal of Biochemistry and Biophysics, vol.27, p.98-102, (1990)) など微生物由来のフィターゼを用いることができる。

【0008】 一方、イノシトールモノリン酸を加水分解し、ミオ-イノシトールを生成するホスファターゼ (以下ホスファターゼと記す) は、アルカリ性ホスファターゼ (EC 3.1.3.1)、酸性ホスファターゼ (EC 3.1.3.2) など広い起源のものを用いることができる。

【0009】 これらの酵素は、必ずしも精製されたもの

でなくてもよく、例えば微生物由来の酵素の場合は、部分精製酵素、培養液、微生物菌体などを酵素源として用いることも可能である。更に、植物や微生物の中にはフィターゼとホスファターゼを両方備えるものも知られており、例えばアスペルギルス・フィカム (*Aspergillus ficuum*) T.R. Shieh ら : *J. Bacteriology*, vol. 100, p. 116 1-1165, (1969) やマング・ビーン (N.C. Mandel ら : *Phytochemistry*, vol. 11, p. 495-502, (1972)) などではフィターゼとホスファターゼが共に存在することが知られている。従って、この場合には、両酵素の供給源として一種類の部分精製酵素、培養液、微生物菌体などを用いることも可能である。

【0010】原料であるフィチン酸またはその塩は、種子や穀類に多く含有されているが、フィチン酸は、遊離状態で種子や穀類に存在することはほとんど無く、多くの場合は、カルシウム・マグネシウム複合塩であるフィチンとして存在する。従って、脱脂米糠やコーンスチーブリカーなどから抽出したフィチンをそのまま酵素反応の基質として用いることが好都合であるが、フィチン酸、更にフィチン酸の重金属塩やアルカリ土類金属塩も用いることができる。

【0011】フィチン酸またはその塩のフィターゼとホスファターゼによる加水分解は、両酵素の共存下に行なっても良いし、まず先にフィターゼを作用させた後、次いでホスファターゼを作用させても良い。反応温度およびpHは用いる酵素源にもよるが、通常10~60°C, pH 2~9の範囲である。酵素反応終了液からのミオーアイノシトールの分離はイオン交換樹脂を用いる方法などの常法を用いることができる。

*

表1

ホスファターゼ	ミオーアイノシトール (g/l)
Potato由来	0. 97
Wheat germ由来	0. 92
Bovine milk 由来	0. 57
Sweet potato由来	1. 74
無添加	0

【0015】実施例2

小麦のふすまから P.B. Lim らの方法 (*Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 302, p. 316-328, (1973)) により 130 単位/mg 蛋白質の活性を有するフィターゼを調製した。フィチン酸ナトリウム (Sigma 社製) 1. 5 g に蒸留水 100 ml を加え NaOH で pH を 5. 0 に調整し、フィターゼ 200 単位を添加して 30°C で 1 日間振盪し、

50

盪した。次に Potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Wheatgerm 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Bovine milk 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Sweet potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製) の何れかのホスファターゼを 20 単位添加し、更に 30°C で 1 日間振盪した。反応液中のミオーアイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ表 1 に示すような結果が得られた。比較のためにフィターゼのみを用いた結果も表 1 に示した。

【0014】

* 【0012】

【実施例】以下に本発明の実施例を示す。なお実施例で示すフィターゼの活性は Abul H.J. Ullah らの方法 (*Preparative Biochemistry*, vol. 17, 63-91, (1987)) で測定したものであり、酵素 1 単位はフィチン酸ナトリウムを基質とし、58°C, pH 5. 0 で 1 分間に 1 μmol のリン酸を生成する活性である。ホスファターゼの活性はシグマ社製酸性ホスファターゼ活性測定キット (シグマ社カタログ, p2055, (1991)) により測定したものであり、酵素 1 単位は p-nitrophenyl phosphate を基質とし、37°C, pH 4. 8 で 1 分間に 1 μmol の p-nitrophenyl phosphate を加水分解する活性である。

【0013】実施例1
アスペルギルス・フィカム NRRL 3135 を用い、Abul H.J. Ullah らの方法 (*Preparative Biochemistry*, vol. 17, p. 63-91, (1987)) により 120 単位/mg 蛋白質の活性を有するフィターゼを調製した。フィチン酸ナトリウム (Sigma 社製) 1. 5 g に蒸留水 100 ml を加え NaOH で pH を 5. 0 に調整したのちフィターゼ 200 単位を添加して 30°C で 1 日間振盪し、次に Potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Wheat germ 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Bovine milk 由来ホスファターゼ (sigma 社製)、Sweet potato 由来ホスファターゼ (sigma 社製) の何れかのホスファターゼを 20 単位添加し、更に 30°C で 1 日間振盪した。反応液中のミオーアイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ表 1 に示すような結果が得られた。比較のためにフィターゼのみを用いた結果も表 1 に示した。

【0014】

な結果が得られた。比較のためにフィターゼのみを用いた結果も表2に示した。

表2

ホスファターゼ	ミオーイノシトール (g/l)
Potato由来	0. 95
Wheat germ由来	0. 90
Bovine milk由来	0. 55
Sweet potato由来	1. 65
無添加	0. 09

【0016】実施例3

アスペルギルス・フィカムN R R L 3135をAbul H. J. Ullahらの方法(Preparative Biochemistry, vol.17, p. 63-91, (1987))により培養した。この培養液20ml(フィターゼ10単位、ホスファターゼ20単位を含む)をフィチン酸ナトリウム(Sigma社製)1.5gに

蒸留水80mlを加えNaOHでpHを5.0に調整した溶液に添加して30℃で1日間振盪した。ミオーイノシトール生成量を液体クロマトグラフィーにより測定したところ1.95g/lのミオーイノシトールが生成していた。

20

ていた。

21

ていた。

22

ていた。

23

ていた。

24

ていた。

25

ていた。

26

ていた。

27

ていた。

28

ていた。

29

ていた。

30

ていた。

31

ていた。

32

ていた。

33

ていた。

34

ていた。

35

ていた。

36

ていた。

37

ていた。

38

ていた。

39

ていた。

40

ていた。

41

ていた。

42

ていた。

43

ていた。

44

ていた。

45

ていた。

46

ていた。

47

ていた。

48

ていた。

49

ていた。

50

ていた。

51

ていた。

52

ていた。

53

ていた。

54

ていた。

55

ていた。

56

ていた。

57

ていた。

58

ていた。

59

ていた。

60

ていた。

61

ていた。

62

ていた。

63

ていた。

64

ていた。

65

ていた。

66

ていた。

67

ていた。

68

ていた。

69

ていた。

70

ていた。

71

ていた。

72

ていた。

73

ていた。

74

ていた。

75

ていた。

76

ていた。

77

ていた。

78

ていた。

79

ていた。

80

ていた。

81

ていた。

82

ていた。

83

ていた。

84

ていた。

85

ていた。

86

ていた。

87

ていた。

88

ていた。

89

ていた。

90

ていた。

91

ていた。

92

ていた。

93

ていた。

94

ていた。

95

ていた。

96

ていた。

97

ていた。

98

ていた。

99

ていた。

100

ていた。

101

ていた。

102

ていた。

103

ていた。

104

ていた。

105

ていた。

106

ていた。

107

ていた。

108

ていた。

109

ていた。

110

ていた。

111

ていた。

112

ていた。

113

ていた。

114

ていた。

115

ていた。

116

ていた。

117

ていた。

118

ていた。

119

ていた。

120

ていた。

121

ていた。

122

ていた。

123

ていた。

124

ていた。

125

ていた。

126

ていた。

127

ていた。

128

ていた。

129

ていた。

130

ていた。

131

ていた。

132

ていた。

133

ていた。

134

ていた。

135

ていた。

136

ていた。

137

ていた。

138

ていた。

139

ていた。

140

ていた。

141

ていた。

142

ていた。

143

ていた。

144

ていた。

145

ていた。

146

ていた。

147

ていた。

148

ていた。

149

ていた。

150

ていた。

151

ていた。

152

ていた。

153

ていた。

154

ていた。

155

ていた。

156

ていた。

157

ていた。

158

ていた。

159

ていた。

160

ていた。

161

ていた。

162

ていた。

163

ていた。

164

ていた。

165

ていた。

166

ていた。

167

ていた。

168

ていた。

169

ていた。

170

ていた。

171

ていた。

172

ていた。

173

ていた。

174

ていた。

175

ていた。

176

ていた。

177

ていた。

178

ていた。

179

ていた。

180